

UNIVERSITE KASDI MARBAH OUARGLA

Faculté des Sciences et de la Technologie et Sciences de la matière

Département de Génie des Procédés



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences et Techniques

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Analyse et contrôle de qualité

Présenté Par : MEKHIBI ALA EDDINE & BOUDRIA HICHAM

Thème

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DES EXTRAITS
BRUTS DE LA PLANTE *URTICA DIOICA***

Devant le jury :

Ghiaba Zineb	MAA UKMO	Présidente
Hamada Djamila	MAA UKMO	Examinatrice
Kendour zaouia	MAA UKMO	Encadreur

Année Universitaire : 2012 /2013



REMERCIEMENT

Nous tenons à remercier le bon Dieu pour le courage et la patience qu'il nous a donnée afin de mener ce projet a terme.

Nous remercions chaleureusement notre encadreur M^{elle} Këndour Zaouia pour sa aide précieuse et ses conseils éclairés dans la direction de mon travail, ainsi que pour sa grande disponibilité et son immense gentillesse.

Nous sommes particulièrement reconnaissants envers Mr Mahdi Belguidoum Doctorant LMD à l'université d'Ouargla pour l'aide et les conseils qu'il nous a prodigué, sa constante disponibilité, sa grand expérience et sa grande sympathie.

Nous remercions vivement Madame Hacini Zineb Maitre de conférence à l'université de Ouargla qui m'a fait l'honneur de présider le jury et Madame Ghiaba Zineb Maitre de conférence à l'université de Ouargla qui m'a fait le plaisir d'examiner ce modeste travail.

Ainsi que tous les enseignants du département de génie des procédés pour leur contribution notre formation et leur disponibilité à orienter les étudiants.

Enfin je remercie toute personne ayant contribué De près de loin à la réalisation de ce travail.

MERCI

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Ma très chère mère qui a sacrifié ses belles nuits rien que pour me voir réussir, et qu'a été toujours pour moi une source de tendresse et de courage.

Mon très cher père qui est ma source d'espoir, du savoir, son courage et sa patience toujours pour moi autant d'exemple.

Ma sœur : Selma.

Mes frères : Anis-mohammed- wail-Abd elghafour.

Mon grand -mères et tout mes oncles.

A mes amies d'enfance

En fin, je remercie mon ami et mon binôme hichouma qui a contribué à la réalisation de ce modeste travail, et toute sa famille.

Toutes mes amies , bilel,remorka , hafsi

A toutes mes collègues et amies de la promotion de l'analyse et contrôle de qualité 2013, Qui j'ai passé mes meilleurs moments Qui resteront un bon souvenir pour toujours .

Ala eddine

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*Ma très chère mère qui a sacrifié ses belles nuits rien que pour me voir réussir,
et qu'a été toujours pour moi une source de tendresse et de courage.*

*Mon très cher père qui est ma source d'espoir, du savoir, son courage et sa
patience toujours pour moi autant d'exemple.*

Ma sœur : mounia.

Mes frères : ismail-mohammed- bilel-ishak.

Mon grand et mes grand-mères et tout mes oncles.

*En fin, je remercie mon ami et mon binôme Ala qui a contribué à la
réalisation de ce modeste travail, et toute sa famille.*

A mes amis d'enfance :doulkifli-ammam-walid-mokhtar –saleh-zaki

A tout mes amies : cherif –aissa-feres-naman-nassim-houssin-zohir

Et tout le groupe al baraka jijel

Toutes mes amies avec qui j'ai passé mes meilleurs moments

Qui resteront un bon souvenir pour toujours

A toutes mes collègues et amies de la promotion de l'analyse et contrôle de

hichouma

Sommaire

Sommaire.....	I
Abréviation.....	II
Liste de figure.....	III
Liste de tableaux.....	IV
Introduction.....	1

Partie théorique

Chapitre I: les composés phénoliques

I-1.Les composés phénoliques.....	2
I-2.Classification des composés phénoliques.....	2
I-2.1.Les phénols simples.....	4
I-2.2.Les acides phénoliques.....	4
I-2.3.les coumarines.....	4
I-2.4.Les flavonoïdes.....	4
I-2.5.Les tanins.....	5

Chapitre II: les antioxydants

II-1. Les antioxydants.....	6
II-1.1.Définition des radicaux libres.....	6
II-1.2.Définition d'un antioxydant.....	6
II-1.3.Mécanisme d'action d'un antioxydant.....	7
II-1.4.Différents types d'antioxydants.....	8
II-1.4.1.Selon leur action.....	8
II-1.4.2.Selon leur source.....	9
II.1.4.2.1. Les antioxydants synthétiques.....	9
II.1.4.2.2 .Antioxydants naturels.....	9
II-2. Les composés phénoliques et l'activité antioxydante.....	10
II-2.1. Les flavonoïdes.....	10
II-2 .2.Les coumarines.....	10
II-2 .3.Les dérivés d'acide phénolique.....	10
II-2 .4.Les tanins.....	10
II-2 .5.Les lignanes.....	10

Partie pratique

Chapitre III: méthodes et matériels

III-1.Présentation de la plante.....	11
III-1.1.Matériel végétal.....	11
III-1.1.1. Classification de la plante.....	11
III-1.2. Caractéristiques de la plante <i>Urtica dioica</i>	12
III-1.3.Description.....	12
III-1.4.Utilisations.....	12
III-1.4.1. Usages alimentaires.....	12
III-1.4.2. Usages médicaux.....	13
III-1.4.3. Usages industriels.....	13
III-1.4.4. Usages agricoles.....	14
III-2.Matériels et méthodes.....	15
III-2.1. Appareils et Produits.....	15
III-2.2. Méthode d'extraction.....	16

III-2.3. Analyse quantitative des composés phénoliques.....	18
III-2.3.1. Dosage des phénols totaux.....	18
III-2.3.1.1. Courbe d'étalonnage.....	18
III-2.3.2. Dosage de flavonoïdes	19
III-2.3.2.1. Courbe d'étalonnage.....	20
III-2.4. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	21
III-2.4.1. Le pouvoir réducteur des composés phénoliques(FRAP).....	21
III-2.4.1.1. Courbe d'étalonnage.....	21
III-2.4.2. Pouvoir anti-radicalaire.....	22
Chapitre IV: résultats et discussions	
IV-1. Calcule du rendement d'extraction.....	23
IV-2. Quantification des composés phénoliques.....	23
IV-2.1. Dosage des phénols totaux.....	24
IV-2.2. Dosage des flavonoïdes.....	25
IV-2.3. Comparaison des teneurs des phénols totaux et des flavonoïdes.....	27
IV-3. Evaluation du pouvoir antioxydant.....	27
IV-3.1. Test de réduction de fer.....	27
IV-3.2. Teste de Réduction du radical stable le DPPH.....	31
Conclusion.....	34
Bibliografie	
Annexe	
Résumé	

Liste d'abréviation

A	Absorption
AEAC	Ascorbique acide équivalent antioxydant capacité
BHA	Buthyl hydroxy anisole
PG	gallate propylée
TBHQ	tétra-butylhydroquinone
DPPH	2 ,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
max	longueur d'onde
TCA	acide trichloroacétique
Tris	(hydroxymethyl) aminomethane hydrochloride
G	Gramme
ml	Millilitre
min	Minute
mm	Millimètre
nm	Nanomètre
µl	Microlitre
UV	Ultra-violet
µm	Micrometer
M	Meter
FRAP	Ferric Reducing Antioxydant Power
I%	Pourcentage d'inhibition
IC50	La minimum concentration de l'extrait (antioxydant) qui inhabité 50%
D	Nombre de dilution
GEA	Equivalent acide galique
QE	Equivalent quercétine
LDL	Cholestérol

Liste des figures

Figure		page
PARTIE THEORIQUE		
Chapitre I		
I- 01	Phénol	02
Chapitre II		
II-01	régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants.	07
II-02	Les antioxydants synthétiques.	09
PARTIE PRATIQUE		
Chapitre III		
III-01	photos de l' <i>Utica</i> .	11
III-02	le protocole d'extraction des composés phénoliques.	17
III-03	structure de l'acide gallique.	19
III-04	structure du Quercétine.	20
III-05	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.	22
Chapitre IV		
IV-01	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	24
IV-02	comparaison de la teneur en phénols totaux des extraits.	25
IV-03	Courbes d'étalonnage du Quercétine.	25
IV-04	la teneur en flavonoïdes totaux d'espèces.	26
IV-05	les teneurs des phénols et des flavonoïdes.	27

IV-06	courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.	27
IV-07	Courbes représentant le pouvoir réductrice des différents extraits, BHA et BHT.	28
IV-08	évaluation de l'activité antioxydant par la méthode FRAP.	29
IV-09	Variation des valeurs d'AEAC en fonction du contenu en phénols Totaux.	30
IV-10	Variation des valeurs d'AEAC en fonction du contenu en flavonoïdes.	30
IV-11	Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations utilisées pour des extraits et VitamineC, BHA.	31
IV-12	Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices 50 des différents extraits, VitamineC et BHA en mg/ml.	32

Liste des tableaux

Tableau		Page
PARTIE THEORIQUE		
Chapitre I		
I-01	Les principales classes des composés phénoliques	03
PARTIE PRATIQUE		
Chapitre III		
III-01	les produits chimiques et les réactifs.	15
III-02	les appareils.	16
Chapitre IV		
IV-01	Tableau récapitulatif regroupant les différents extraits.	23
IV-02	Quantité des phénols totaux dans les extraits.	24
IV-03	Quantité des flavonoïdes totaux dans les extraits.	26
IV-04	Les valeurs d'AEAC des différents extraits étudiés.	29
IV-05	IC ₅₀ de DPPH des extraits d' <i>urtica dioica</i> .	32

Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, l'humanité a utilisé diverses plantes trouvées dans son environnement, afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies, ces plantes représentent un réservoir immense de composés potentiels attribués aux métabolites secondaires qui ont l'avantage d'être d'une grande diversité de structure chimique et ils possèdent un très large éventail d'activités biologiques. Cependant l'évaluation de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études.

Le continent africain est doté d'une biodiversité parmi les plantes riches dans le monde, avec un nombre très élevé de plantes utilisées comme herbes, comme aliments naturels et pour des buts thérapeutiques. De nombreuses substances naturelles différentes ont été identifiées et beaucoup d'entre elles se sont utilisées dans la médecine traditionnelle pour la prophylaxie et le traitement des maladies.

Malgré la nature hétérogène d'une biodiversité immense du continent africain en général et de l'Algérie en particulier, il y a eu peu d'efforts consacrés au développement des agents thérapeutiques de ces plantes. C'est pourquoi nous nous sommes intéressés à étudier la plante *Urtica dioïça*, parmi les plantes médicinales qui est le moins fréquemment employé dans notre pays à cause de l'ignorance de sa valeur nutritionnelle et médicale.

Les extraits de cette plante médicinale sont utilisés traditionnellement contre une multitude de maux et notamment comme antipyrétique, les métrorragies et anti-diarrhéique.

Notre travail s'inscrit dans le cadre d'une contribution à une meilleure connaissance de cette plante médicinale de la région de Taza wilaya de Jijel et de découvrir certains constituants chimiques, les composés phénoliques totaux et les flavonoïdes et l'étude de l'activité antioxydante des certaines extraits. Ce travail comporte deux parties:

- La première partie consiste en une étude théorique sur les composés phénoliques et les antioxydantes
- Le premier chapitre intitulé les composés phénoliques.
- Le deuxième chapitre intitulé Les antioxydantes contient la définition des radicaux libre et les antioxydantes, Les composés phénoliques et l'activité antioxydante
- Le deuxième partie c'est la partie pratique de ce mémoire: elle comporte deux chapitres :
- Le troisième chapitre contient les méthodes expérimentales.
- Le quatrième chapitre contient les résultats de notre travail.

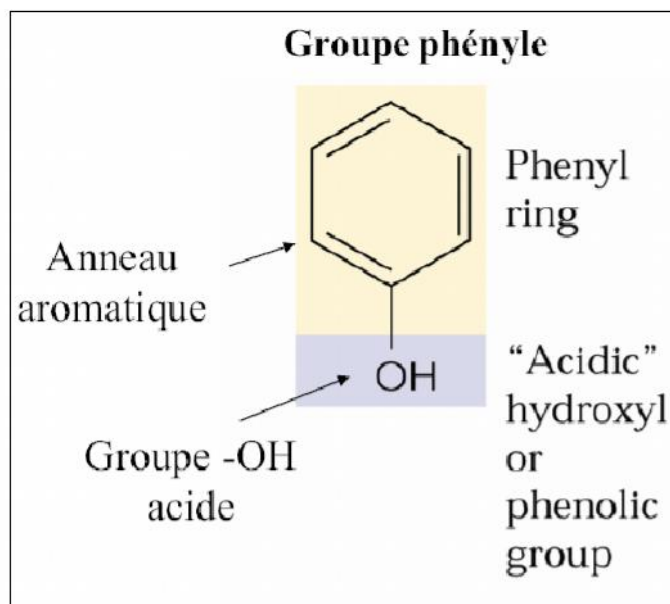
Chapitre I

Les composés phénoliques

Les composés phénoliques**I-1. Les composés phénoliques**


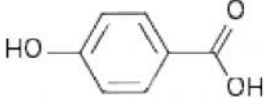
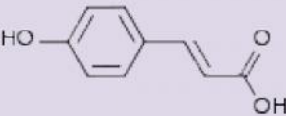
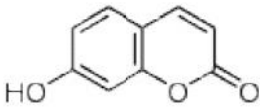
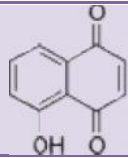
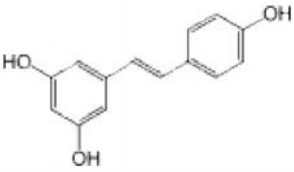
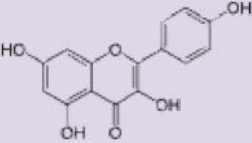
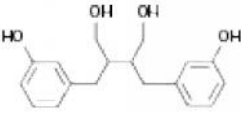
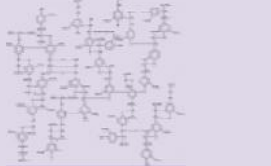
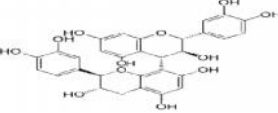
Pour le chimiste, un composé phénolique est caractérisé par la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside. et pour le phytochimiste, un composé phénolique est un dérivé non azoté dont le ou les cycles aromatiques sont principalement issus du métabolisme de l'acide shikimique et/ou de celui d'un polyacétate. [1]

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment à cause de leurs effets bénéfiques sur la santé. En effet, leur rôle d'antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement du cancer, des maladies inflammatoires, cardiovasculaires et neurodégénératives. Ils sont également utilisés comme additifs pour l'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique. [2]

**Figure I .01: Phénol****I-2. Classification des composés phénoliques**

Le terme de composés phénoliques couvre un groupe très vaste et diversifié de produits chimiques. Ces composés peuvent être classés dans un certain nombre de façons. Harborne et Simmonds (1964) ont classé ces composés dans les groupes en fonction du nombre d'atomes de carbone dans la molécule. [3]

Tableau I .01 : Les principales classes des composés phénoliques

COMPOSES PHENOLIQUES				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	<u>Phénols simples</u>	<u>Hydroquinone</u>		Busserole
C6-C1	<u>Acides hydroxybenzoïques</u>	Acide p-hydroxybenzoïque		Epices, fraises
C6-C3	<u>Acides hydroxycinnamiques</u>	acide p-coumarique		Tomates, Ail
	<u>Coumarines</u>	Ombelliférone		Carottes, coriandre
C6-C4	Naphtoquinones	Juglone		Noix
C6-C2-C6	<u>Stilbénoides</u>	trans-resvératrol		Raisin
C6-C3-C6	<u>Flavonoïdes</u>	<u>Kaempférol</u>		Fraises
(C6-C3) ₂	<u>Lignanes</u>	Entérodiol		Bactéries intestinales
(C6-C3) _n	<u>Lignines</u>			Bois, fruits à noyaux
(C6-C3-C6) _n	<u>Tanins condensés</u>	Procyanidol		Raisins, kaki

I-2.1. Les phénols simples

Ceux sont les composés renfermant une ou plusieurs unités phénoliques sans d'autre fonction particulière impliquant le(s) noyau(x) benzénique(s) comme le 3-hydroxytyrosol, le tyrosol, le 4-vinylphénol.[4]

I-2.2. Les acides phénoliques

Ce sont les dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique. Ils sont représentés dans le tableau (I-01).

I-2.3. Les coumarines

Les coumarines viennent du mot « coumarou » non vernaculaire de la fève de Tonka [5]. Isolées la première fois de *Coumarouna odorata* par Vogel en 1820, aujourd'hui, près de 1000 composés coumariniques sont isolés dans plus de 800 espèces de plantes et dans les micro-organismes. [4]

Les coumarines libres sont solubles dans les alcools et les solvants organiques tels que l'éther ou les solvants chlorés dans lesquels ils sont extractibles. Les formes hétérosidiques sont plus ou moins solubles dans l'eau. Elles ont un spectre UV caractéristique, fortement influencé par la nature et la position des substituant. [1]

Les coumarines ont des effets différents sur le développement des plantes suivant leur concentration mais aussi suivant l'espèce. Dans la cellule, les coumarines sont principalement présentes sous forme glycosylée. Cette glycosylation serait une forme de stockage permettant d'éviter les effets toxiques des coumarines sur la cellule et la croissance des plantes. Certaines d'entre elles sont induites par des stress abiotiques et biotiques et possèdent une activité antimicrobienne telles les furanocoumarines de persil [6].

I-2.4. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils sont considérés comme des pigments quasi universels des végétaux, dont plusieurs sont responsables de couleur vive des fleurs, des fruits et des feuilles. [6]

Les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes des molécules dont les plus importants sont les flavones, les flavonols, les flavanols, les flavanones, les dihydroflavanols, les isoflavones, les isoflavanones, les chalcones, les auronnes et les anthocyanes. Ces divers composés se rencontrent à la fois sous forme libre ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière très générale, dans toutes les plantes vasculaires, où ils peuvent être localisés dans divers organe : racine, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits.

Par définition, ce sont les composés qui ont en commun la structure du diphenyl propane C₆-C₃-C₆ ; les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B forment généralement un hétérocycle oxygéné C. [4]

I-2.5. Les tanins

Les tanins sont des substances d'origine organique que l'on trouve pratiquement dans tous les végétaux, et dans toutes leurs parties (écorces, racines, feuilles, etc.), caractérisées par leur astringence. Ils ont la propriété de précipiter les protéines (fongiques ou virales) et les métaux lourds. Ils favorisent la régénération des tissus et la régulation de la circulation veineuse, tonifient la peau dans le cas des rides. Ils sont abondants dans les organes végétaux jeunes. Deux groupes de tanins différents aussi bien par leur structure que par leur origine biogénétique sont distingués : les tanins hydrolysables et les tanins vrais. Certains tanins auraient des propriétés antioxydants. [7]

Chapitre II

Les antioxydants

*Les antioxydants***II-I. Les antioxydants****II-1.1. Définition des radicaux libres**

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécule possédant un ou plusieurs électrons non appariés dits célibataires sur l'orbitale externe. Cette caractéristique rend les radicaux libres très électrophiles car ils vont tenter de ré-apparier leur électron célibataire en agressant toute molécule susceptible de se faire arracher un électron; leur durée de vie est ainsi très courte. [6]

Ce sont très instables et réagissent rapidement avec d'autres composants, essayant de capturer l'électron nécessaire pour acquérir de la stabilité [9].

Les radicaux libres sont produits au cours de nombreuses réactions engagées dans les mécanismes physiologiques, (respiration mitochondriale), dans les mécanismes pathologiques (inflammation, infection, toute pathologie dégénérative et vieillissement accéléré) [10].

II-1.2. Définition d'un antioxydant

De nombreuses espèces oxydantes sont produites et bien qu'elles soient souvent indispensables à l'organisme, elles ne sont pas moins responsables de dégâts importants.

Pour faire face à ces produits oxydants délétères, le corps humain possède tout un arsenal de défenses que l'on qualifie d'antioxydants. Mais bien que le terme « antioxydant » soit fréquemment utilisé, il est difficilement définissable car il couvre un large nombre de molécules et des domaines très divers comme l'alimentation, l'industrie chimique, l'industrie Pharmaceutique. [11]

Un antioxydant peut être défini comme toute substance capable, à concentration relativement faible, d'entrer en compétition avec d'autres substrats oxydables et ainsi retarder ou empêcher l'oxydation de ces substrats. Les cellules utilisent de nombreuses stratégies antioxydantes et consomment beaucoup d'énergie pour contrôler leurs niveaux d'espèces réactives de l'oxygène (Figure II-01)

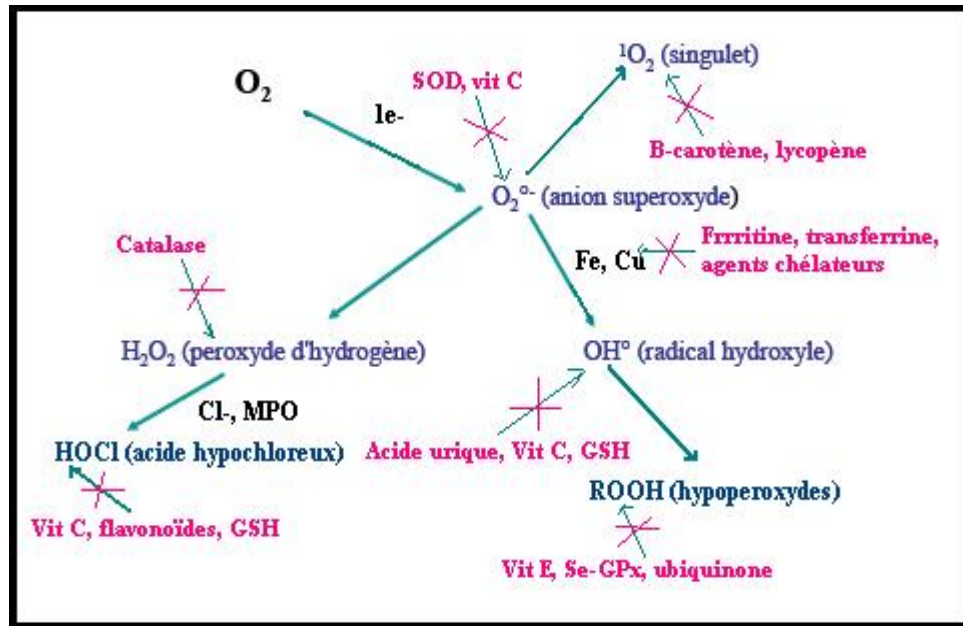


Figure II-01. Régulation de la production d'espèces réactives de l'oxygène par les systèmes de défenses antioxydants. [12]

II-1.3.Mécanisme d'action d'un antioxydant

D'une manière générale, un antioxydant peut empêcher l'oxydation d'un autre substrat en s'oxydant lui-même plus rapidement que celui-ci. Un tel effet résulte d'une structure de donneur d'atome d'hydrogène ou d'électrons souvent aromatiques cas de dérivés du phénol. En plus leurs radicaux intermédiaires sont relativement stables du fait de la délocalisation par résonance et par manque de positions appropriées pour être attaqué par l'oxygène moléculaire. [2]

La raison pour laquelle les antioxydants sont importants vient du fait que l'oxygène est un élément potentiellement toxique puisqu'il peut être transformé en formes plus réactives telles que le superoxide, le peroxyde d'hydrogène, l'oxygène singulier et les radicaux hydroxyle, collectivement connu sous le nom d'oxygène actif. [12]

Les antioxydants sont en fait des agents de prévention, ils bloquent l'initiation en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène, ou des agents de terminaison capables de dévier ou de piéger les radicaux libres, ils agissent en formant des produits finis non radicalaires. D'autres en interrompant la réaction en chaîne de peroxydation, en réagissant rapidement avec un radical d'acide gras avant que celui-ci ne puisse réagir avec un nouvel acide gras. Tandis que d'autres antioxydants absorbent l'énergie excédentaire de l'oxygène singulier pour la transformer en chaleur. [6]

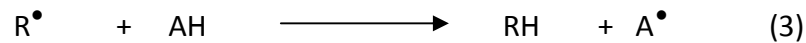
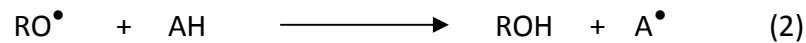
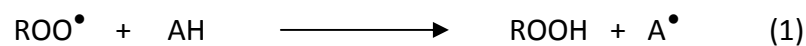
II-1.4. Différents types d'antioxydants

La classification de tous les antioxydants connus est difficile, ils sont classés Généralement par leur mécanisme d'action ou par leur nature chimique.

II-1.4.1- Selon leur action

Antioxydants de type I:

Il s'agit de substances capables d'interrompre la chaîne radicalaire en cédant un radical d'hydrogène (H) à un radical libre lipidique présent.



AH : antioxydant et A : radical de l'antioxydant.

Les radicaux A qui se forment sont relativement stables et ne possèdent pas d'énergie suffisante pour arracher un hydrogène aux lipides. Ils subissent une réaction d'arrêt aboutissant à la formation des produits non radicalaires. [2]

Antioxydants de type II:

Les antioxydants de cette catégorie sont les composés qui agissent en empêchant ou en diminuant la formation des radicaux libres. Les plus utilisés sont des agents complexant les ions métalliques réduisant l'effet prooxydant des ions, c'est le cas de l'acide phosphorique, citrique et les ascorbates. Ils agissent en stabilisant la forme bivalente du métal dont l'action catalysante est plus faible que celle de la forme trivalente.

Antioxydants de type III:

Ils regroupent les facteurs de l'environnement qui ont une action antioxydante, en agissant sur le potentiel redox du milieu, la température, la pression en oxygène, la lumière.

II-1.4.2.Selon leur source

II.1.4.2.1 Les antioxydants synthétiques

Dans l'industrie alimentaire, les antioxydants synthétiques, tel que le butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluene (BHT), gallate propylée (PG) et le tetra-butylhydroquinone (TBHQ), sont largement utilisés parce qu'ils sont efficaces et moins chers que les antioxydants naturels. Cependant, leur sécurité est très discutée car ils génèrent un besoin de recherche comme matières de substitution d'après des sources naturelles comme antioxydants de la nourriture. [13]

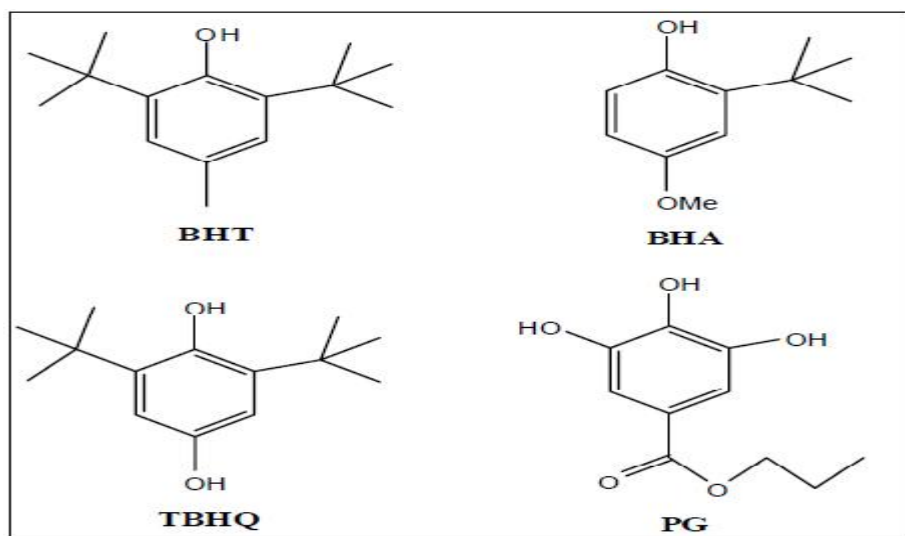


Figure II-02 : Les Antioxydants Synthétiques. [14]

II.1.5. Antioxydants naturels

Les antioxydants sont naturellement présents dans presque toutes les plantes, tous les micro-organismes, les champignons et même dans les tissus animaux [14].

Elles incluent le bêta-carotène, l'albumine, l'acide urique, les œstrogènes, les polyamines, les flavonoïdes, l'acide ascorbique, les composés phénoliques, la vitamine C, etc. Elles peuvent stabiliser les membranes en diminuant leur perméabilité et elles ont également une capacité de lier les acides gras libres [15].

II-2 Les composés phénoliques et l'activité antioxydante

II-2.1 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes agissent par deux mécanismes d'action :

- soit par chélation des métaux (quercétine, catéchine)
- soit par capture des radicaux hydroxyles, superoxydes, alkoxydes et peroxydes On les retrouve dans les fruits, les légumes, le thé ...etc. [16]
- Elle contribue aussi à l'inhibition de l'oxydation des lipoprotéines de faible densité (LDL) qui sont impliquées dans l'athérogenèse. [17]

II-2.2 Les coumarines

Ils ont la capacité de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes, et peroxydes. Ils préviennent également la peroxydation des lipides membranaires. [16]

Les conditions structurales requises pour l'activité antioxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes. [17]

II-2.3 Les dérivés d'acide phénolique

On les retrouve dans de nombreux fruits, légumes, le café, les prunes, les myrtilles, le raisin et les pommes. Les composés possédant les activités antioxydantes et antiradicalaires sont l'acide caféique, l'acide gallique et l'acide chlorogénique.

Il inhibe aussi la peroxydation lipidique dépendante du fer dans les mitochondries et possède une forte capacité de capter le radical libre DPPH.

II-2.4 Les tanins

Les tanins inhibent la peroxydation lipidique des mitochondries du foie et des microsomes mais aussi l'oxydation de l'acide ascorbique et du linoléate. Lors de la peroxydation les tanins donnent des protons face aux radicaux libres, et ainsi des radicaux tanniques stables sont formés. Ce qui permet de stopper la réaction en chaîne de l'auto-oxydation lipidique.

II-2.5 Les lignanes

Les lignanes les plus étudiés du point de vue de leur activité antioxydante sont les dérivés bifuranyles des graines de sésame. [16]

Chapitre III

Matérielles et méthodes

Présentation de la plante**III-1. Présentation de la plante****III-1.1. Matériel végétal**

Les espèces sélectionnées (*urtica dioica*) à été collectées dans leurs habitats naturels entre le mois de Mars et Avril 2012. La récolte a été effectuée au nord algérien dans la région de taza (wilaya de jjjel) pour l'espèce.

III-1.1.1. Classification de la plante

Nom binominal : *Urtica dioica*

Règne : Plante

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Urticales

Famille : Urticacée

Genre : *Urtica* [18]

Type: plante herbacée vivace haute de cm 40 à tige adressée quadrangulaire portant des poils urticants et des poils court

Période de floraison: avril – septembre. [19]



Figure III-01: photos d' *Urtica dioica*

III-1.2. Caractéristiques de la plante *Urtica dioica*

La grande ortie (*Urtica dioica*) encore appelée ortie dioïque ou ortie commune, est une ortie d'origine eurasiatique qui est aujourd'hui présente dans le monde entier. C'est une plante herbacée, vivace. Détestée en raison des brûlures qu'elle provoque, privée des charmes de la couleur et du parfum, cette mal-aimé n'est pourtant pas dénuée d'intérêts. Outre ses usages alimentaires, agricoles, industriels et médicaux, cette plante aux fleurs unisexuées, portées soit par des pieds différents (diécie), soit par le même pied (monœcie très rare), offre aux chercheurs une occasion unique pour comprendre les mécanismes génétiques de la séparation sexuelle des plantes. [18]

III.1.3. Description

C'est une plante vivace herbacée de 60 à 150 cm de hauteur, formant des colonies grâce à ses longs rhizomes. Tous ses organes sont recouverts de deux types de poils: de longs poils urticants et de petits poils souples. Ses tiges sont dressées et non ramifiées.

III-1.4. Utilisations

III-1.4.1. Usages alimentaires

Les feuilles sont comestibles: jeunes elles peuvent être mangées crues (hachées en salade) ou en légumes, dans des gratins, des quiches ou dans la potée aux orties ou en soupe, mais elles sont surtout consommées cuites (à l'instar des épinards). Moins connues, il existe aussi une recette d'escargots aux orties et de la bière d'ortie. Autrefois considérée comme un « plat de pauvre », l'ortie est dans la plupart des recettes associée aux pommes de terre.

Les feuilles d'orties contiennent des protéines foliaires en bonne quantité (9g pour 100g de feuilles), une grande quantité de fer (41mg pour 100g, plus que la viande) et du zinc.

L'ortie est cultivée à des fins alimentaires pour ensuite être vendue dans les magasins d'alimentation bio sous des présentations pratiques.

III-1.4.2. Usages médicaux

Bref historique des utilisations médicinales de l'ortie en occident, depuis l'antiquité, l'ortie est considérée comme un hémostatique puissant. En Grèce, Discorde (I^{er} siècle) prescrivait l'utilisation de feuilles fraîches pour les métrorragies, les blessures infectées et l'application de son jus pour les saignements de nez. Au XVIII^e siècle, Chonel la considérait comme « l'un des plus assurés remèdes pour le crachement de sang, et pour les hémorragies ». Elle était reconnue pour ses propriétés astringentes, anti-diarrhéiques, et dépuratives.

Elle fut inscrite au Codex de la Pharmacopée française en 1818. Jusqu'au XIX^e siècle, on considérait que les flagellations du corps avec une botte d'ortie étaient un moyen efficace de lutter contre les douleurs rhumatismales.

III-1.4.3. Usages industriels

« Jadis, les fibres d'ortie étaient largement utilisées pour fabriquer des cordages, des fils et des vêtements. En Pologne, le fil d'ortie a été utilisé du XII^e siècle au XVII^e siècle jusqu'à son remplacement par le fil de soie. Durant la Première Guerre mondiale, les Allemands ont utilisé les fibres d'ortie pour fabriquer des tentes, des sacs à dos, des maillots de corps et des chaussettes ; 85 % de leurs vêtements étaient fait de fibres d'ortie. La couleur naturellement verte de la fibre d'ortie était appréciée de l'Armée pour confectionner des vêtements de camouflage. Dans les années 40, pour la production textile, l'Allemagne et l'Autriche consacraient 500 ha et la Grande Bretagne 70 ha à la culture de l'ortie à fibre. Malheureusement, l'industrie de la fibre d'ortie a été abandonnée pour des raisons de techniques et de coûts ». Dans l'Himalaya, l'usage des fibres d'une ortie herbacée locale, *Urtica parviflora*, a perduré jusqu'à maintenant. On l'utilise pour fabriquer des cordages, des textiles et un papier de bonne qualité.

Actuellement des chercheurs autrichiens cherchent à améliorer la culture d'ortie à fibres pour exploiter le potentiel de cette fibre naturelle, biodégradable et bon marché, dans l'industrie textile.

III-1.4.4. Usages agricoles

Le purin d'ortie, obtenu par macération des feuilles hachées dans de l'eau (purin), est utilisé en lutte biologique pour tuer ou repousser les insectes et comme fertilisant. Riche en azote, fer, potasse et oligo-éléments, le purin d'ortie constitue un bon fortifiant pour les plantes et stimule la croissance et la résistance naturelle contre les ennemis et les maladies. Il est utilisé en jardinage biologique pour renforcer l'immunité des végétaux et éviter les traitements et les pesticides. C'est aussi un excellent accélérateur de compost .

Les orties ont longtemps été utilisées pour nourrir les volailles et le bétail. L'ortie fraîche, finement hachée et mélangée à du son et éventuellement de la farine, servait à engraisser les dindonneaux, les poulets ou les canards. Les chevaux, ânes et les ruminants apprécient l'ortie, lorsqu'elle est sèche et flétrie.

La cueillette des orties sans gants est possible à condition de choisir les feuilles les plus jeunes et de déplacer la main de la tige vers l'extrémité des feuilles. [18]

Matérielles et méthodes

III-2. Matérielles et méthodes

III-2.1. Appareils et Produits

Tableau III .01: les produits chimiques et les réactifs

Produits	Propriétés
Méthanol. (CH ₃ -OH)	M=32.04 g/mol, 99%
Ether de pétrole. (R-O-R)	d=0.65, 65%
Acétate d'éthyle. (CH ₃ COOCH ₂ CH ₃)	D=88.1 , 99.8%
Chloroforme (CHCl ₃)	M=119.4, 99%
TCA ou acide trichloroacétique(CCl ₃ COOH)	M=163.39
Potassium ferricyannate K ₃ Fe(CN) ₆	M=329g/mol
Acide gallique monohydrate (C ₇ H ₆ O ₅ H ₂ O)	M=188.14
Carbonate de sodium(Na ₂ CO ₃)	M=105.99g/mol
chlorure ferrique FeCl ₃	M=162.21g/mol
Na ₂ PO ₄ (2H ₂ O)	M=156g/mol
Na ₂ PO ₄ (12H ₂ O)	M=358.13
Sulfate de Sodium. Na ₂ SO ₄	M=142.04g/mol
Eau distillée. (H ₂ O)	M=18g/mol
n-Butanol(C ₄ H ₉ OH)	M=76g/mol
acétate de sodium	M=82.03g/mol
Chlorure d'aluminium(AlCl ₃)	M=241.43 g/mol
Acide ascorbique	M=152g/mol
Solution de Folin	d =1.22
BHA	M=180.25g/mol
BHT	M=220.35g/mol
DPPH	M = 394.3g/mol
Quercétrine	M=302 g/mol
TRIS	M=121.14g/mol
HCl	M=36 g/mol

Tableau III.02: les appareils

L'appareil	Propriétés
Rota vapeur	R-210 Buchi
Ampoule à decanter	250 ml
Ballons pour le rota-vapeur	(250ml 1000ml)
Etuve.	LDO-080N, $T_{\max}=320^{\circ}\text{C}$
Balance électronique	OHAUS, 0.0001g, $m_{\max}=210\text{g}$
Broyeur	
Spectrophotomètre ultraviolet-visible	Spectro Scan 80DV
Micropipette	SL-plus 100
UV visible	SpectroScan 800V

III-2.2.Méthode d'extraction

Après séchage dans un endroit sec et aéré, à l'abri de la lumière du soleil, la plante est broyée entièrement, puis pesée ($M=15\text{ g}$). La matière végétale obtenue est mise à macération dans un mélange hydro alcoolique (Méthanol / eau ; 80 / 20 ; V / V). Cette macération est répétée 2 fois avec renouvellement du solvant chaque 24 heure.

Après filtration et l'évaporation sous vide, la solution a subi des extractions successives de type liquide-liquide en utilisant des solvants de polarité croissante en commençant par le chloroforme puis l'acétate d'éthyle et enfin avec le n-butanol.

Les trois phases organiques ainsi obtenues (faiblement polaire : chloroforme, moyennement polaire : acétate d'éthyle et polaire : n-butanol) sont concentrées à sec sous pression réduite, pesées, puis les extraits chloroforme, acétate d'éthyle et n-butanol sont repris avec du méthanol.

Chaque extraction est répétée trois fois sauf avec l'acétate d'éthyle. Le protocole d'extraction est résumé dans la Figure (III-02)

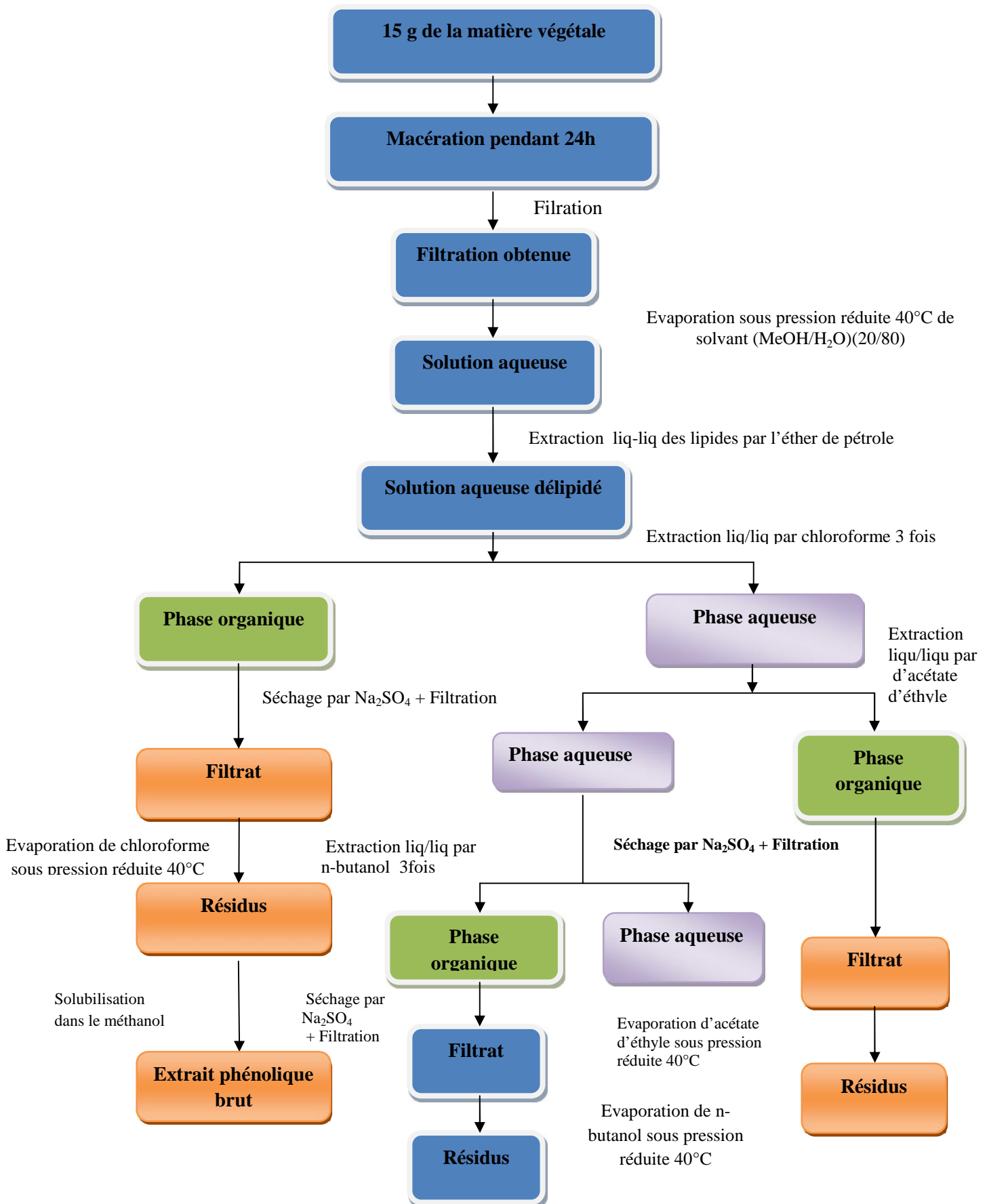


Figure III-02: Protocole d'extraction des composés phénoliques.

III-2.3. Analyse quantitative des composés phénoliques

Cette analyse permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénols totaux de l'échantillon.

Le dosage des phénols totaux a été effectué par une méthode adaptée de Singleton et Rossi en utilisant le réactif de Folin-Siocalteu [13], tandis que les flavonoïdes ont été quantifiés par le dosage direct par le trichlorure d'aluminium d'après une méthode adaptée de Lamaïosn et Carnat.

III-2.3.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage est réalisé selon la méthode citée avant, en utilisant le réactif de Folin. Le réactif est formé d'acide phosphomolybdique $H_3PMO_{12}O_4$ et d'acide phosphotungstique $H_3PW_{12}O_{40}$ qui est réduits par l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène W_8O_{23} et de molybdène MO_8O_3 .

Les phénols sont estimés par une spectroscopie UV dont l'acide gallique est utilisé comme un standard à une longueur d'onde $\lambda = 760$ nm.

III-2.3.1.1. Courbe d'étalonnage

Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions d'acide gallique de différentes concentrations de 0.01 jusqu'à 0.3 g/l.

100 μ l de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une micropipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 0.5 ml d'une solution de réactifs de Folin-Cicolteu dilué 10 fois dans l'eau distillée, 2 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 20%.

Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées, puis elles sont maintenues à l'obscurité pendant 30 minutes.

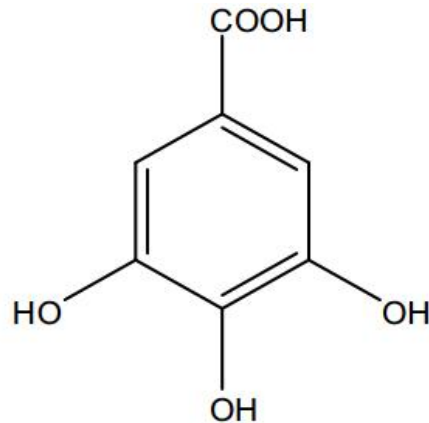


Figure III-03: structure de l'acide gallique

L'analyse quantitative des phénols totaux des extraits phénoliques a été réalisée en adaptant la même procédure utilisée pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, en remplaçant l'acide gallique par des dilutions des extraits jusqu'à une concentration appropriée.

Les concentrations des extractions ont été déterminées par la formule suivante:

$$C = \frac{A}{K} \times N \times \frac{V}{M}$$

A: absorbance d'échantillon à 760 nm.

N: nombre de dilution.

V: volume de l'extrait total.

M: la masse ou le poids initial macéré (g).

K: Tangente de l'acide gallique.

C: Quantité des phénols totaux en (mg/g).

III-2.3.2. Dosage de flavonoïdes:

Le chlorure d'aluminium (AlCl_3) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxydes OH des phénols. Ce complexe jaune absorbe la lumière visible à une longueur d'onde 415 nm.

Les phénols sont estimés par une spectroscopie UV, dont la Quercétine est utilisé comme un standard à une longueur d'onde =415 nm.

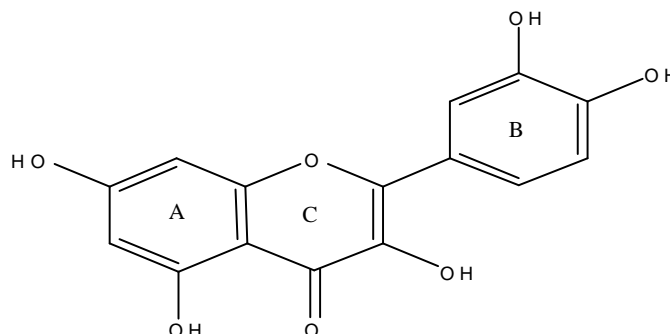


Figure III- 04 : structure du Quercetine.

III-2.3.2.1. Courbe d'étalonnage

Un standard de calibration a été préparé en utilisant des solutions de Quercetine de différentes concentrations de 0.006 jusqu'à 0.04 g/1.0.5 ml de la solution diluée a été mélangé avec 1.5 ml d'éthanol 95%, est mis à réagir avec 0.1 ml de chlorure aluminium 10%, suivie de 0.1 ml d'acétate de sodium 1M et 2.8 ml d'eau distillé puis laissé 30 minutes dans l'obscurité .L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 415 nm.

En utilisant les valeurs des absorbances obtenues pour les différentes solutions de Quercetine ainsi préparées nous avons tracé la courbe d'étalonnage.L'analyse quantitative des flavonoïdes totaux des extraits a été réalisée en adaptant la même procédure utilisée pour l'établissement de la courbe d'étalonnage, en remplaçant la quercetine par des délutions des extraits jusqu'à une appropriée concentration. La teneur en flavonoïdes totaux de chaque extrait a été calculée et exprimé en équivalent Quercetine en milligramme par 1g de la matière végétale (mg/g).

$$C = \frac{A}{K} \times N \times \frac{V}{M}$$

A: absorbance d'échantillon à 760 nm.

N: nombre de dilution.

V: volume de l'extrait total.

M: la masse ou le poids initial macéré.

K: Tangente de Quercetine.

C:Quantité des flavonoïdes totaux en (mg/g).

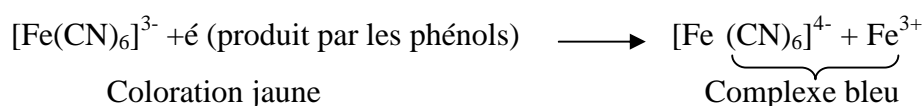
III-2.4. Evaluation du pouvoir antioxydant

Des nombreuses méthodes sont utilisées pour l'évaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques purs ou des extraits. La plupart de ces méthodes sont basées sur la coloration ou la décoloration d'un réactif dans le milieu réactionnel. Dans notre étude nous avons utilisé deux test chimique à savoir : le test ferric Reducing / Antioxydant Power Assay qui mesure le pouvoir de réduction des ions de fer et l'effet « scavenger » sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH).

III-2.4.1. Le pouvoir réducteur des composés phénoliques (FRAP)

La puissance de réduction des extraits de l'*Urtica dioica* était déterminée selon la méthode décrite par Oyaizu. [9]

Ce test est considéré comme un test direct et rapide dont est utilisé pour mesurer le pouvoir des antioxydants non enzymatiques, et utiliser pour déterminer l'activité antioxydant des extraits étudiés dans un milieu neutre. Ce test est basé sur la réduction des ions $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ à des ions de $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ qui donne dans la présence des ions Fe^{3+} une coloration bleu clair, qui peut être mesurer leur absorbance à une longueur d'onde $\lambda = 700 \text{ nm}$.



L'activité antioxydant est mesuré avec un nouveau terme appelé AEAC : qui présente l'activité antioxydant en équivalent de l'acide ascorbique des extraits étudiés (Ascorbic Acid Equivalent Antioxydant Capacity).

L'évolution de l'activité antioxydant de nos extraits est comparée par rapport à l'acide ascorbique (vitamine C) et cela en traçant une courbe d'étalonnage de ce dernier.

III-2.4.1.1 Courbe d'étalonnage

On prépare des solutions d'acide ascorbique (vitamine C) de concentration de 0.01 jusqu'à 0.1 g/l. 1 ml de chaque solution ont été introduits à l'aide d'une pipette dans des tubes à essai, suivis de l'addition de 2.5 ml d'une solution $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (1% m/v), 2.5 ml de solution tampon phosphaté (0.2M .PH 6.6). Les solutions ont été secouées immédiatement et bien mélangées, puis ils sont maintenus dans un bain marie pendant 30 minutes à une température de 50 °C. en suite, on ajoute 2.5 ml de l'acide trichloracétique (TCA 10% m/v). On prend de chaque tube 2.5 ml et on introduit dans un autre tube à essai et on ajoute 2.5 ml

de l'eau distillé, 0.5 ml de solution de FeCl_3 (0.1 % m/v).

L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 700 nm contre un blanc. Les lectures de la densité optique à 700 nm, des solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vitamine C).

Les différents extraits sont traités de la même façon que ceux des solutions standards de l'acide ascorbique (V.C). Nous avons tracé les courbes représentant la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilution.

III-2.4.2. Pouvoir anti-radicalaire

• Principe

Le pouvoir anti-radicalaire ou l'effet « scavenger » sur le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) est une méthode qui est initialement utilisée pour déterminer les donneurs de protons dans les composés phénoliques.

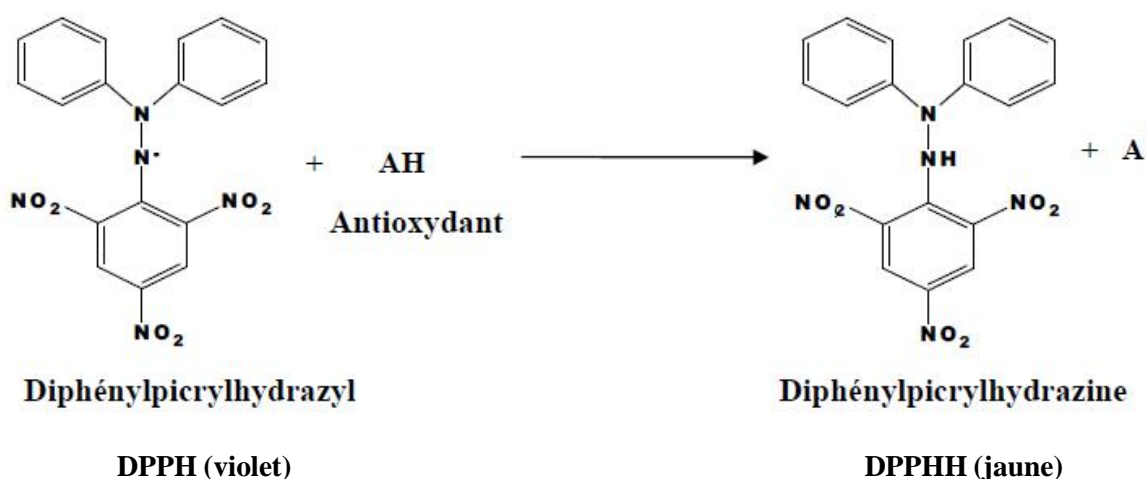


Figure III-05: Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH.

La molécule DPPH[•] est un radical stable grâce à la délocalisation de son électron célibataire autour de la molécule empêchant ainsi sa polymérisation, ce qui est le cas de la plupart des radicaux. La délocalisation de l'électron est responsable d'un développement d'une couleur violet foncé

La présence d'un antioxydant dans le milieu engendre la libération d'un proton réduisant ainsi le radical DPPH[•]. Suite à cette réaction, la couleur violette se dissipe laissant apparaître une couleur jaune pâle. Ce passage, de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut exprimer le pourcentage de réduction de DPPH. Le suivi de la délocalisation est réalisé par spectromètre UV à 517 nm. [14]

- **Procédure expérimentale**

Un ml de chaque extrait phénolique dilué dans le tampon Tris HCl (100 mM, pH=7.4) est additionné à 1ml d'une solution de DPPH• (500µM) préparé dans le méthanol.

Le mélange réactionnel a été secoué immédiatement, puis il est maintenu à l'obscurité pendant 30 minutes à une température ambiante pour que la réaction accomplisse. L'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm contre un blanc.

Les mesures de la diminution de l'absorbance du DPPH provoquées par la présence des extraits après 30 minutes ont permis de déterminer le pouvoir antioxydant de différents extraits.

- **Expression des résultats**

Pour obtenir la concentration efficace IC₅₀ qui réduit la concentration initiale de DPPH de 50%, les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition :

$$(I \%) \text{ DPPH} = \frac{(A - A_1)}{A} \times 100$$

I % : Inhibition de DPPH.

A : Absorbance de contrôle.

A₁ : Absorbance d'extrait. [14]

Chapitre IV

Résultats et discussions

Résultats et discussions

IV-1. Calcule du rendement d'extraction

Les rendements des extractions ont été déterminés par la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{\text{Masse de résidu extrait}}{\text{Masse de la poudre végétale}} \times 100$$

Tableau. IV.01: Tableau récapitulatif regroupant les différents extraits.

Matériel végétal	Extrait	Rendement (%)
<i>Urtica dioica</i>	Chloroforme	0.510
	Acétate d'éthyle	0.1
	n-butanol	21.32

L'extrait de n- butanol de l'*urtica dioica* a été trouvé est plus grand que les extrait de chloroforme et l'acétate d'éthyle.

IV-2. Quantification des composés phénoliques

C'est une analyse qui permet d'avoir une estimation sur la teneur en phénol totaux de l'échantillon et le contenu en flavonoïdes.

IV-2.1. Dosage des phénols totaux

La courbe d'étalonnage de l'acide gallique est représentée dans la Figure (I V-01).

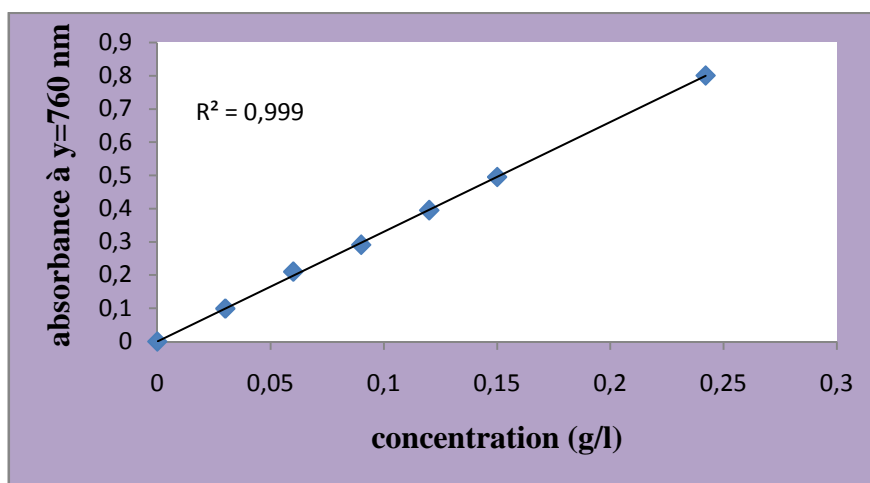


Figure .IV.01 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

La quantité des phénols totaux dans les extraits est exprimée en équivalent d'acide Gallique en milligramme par 1g de matière végétale (mg/g). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (IV-02).

Tableau. IV.02 : Quantité des phénols totaux dans les extraits, AEAC a la masse sèche de la plante

	<i>Urtica dioica</i> (mg/g) sèche
n-butanolique	14.23
Acétate d'éthyle	0.92
Chloroforme	0.79

Il est bien claire que La phase acétate et chloroforme contient à- peu-près 15 fois plus moins la quantité de phénols que la phase butanolique.

En voie aussi que l'extrait d'acétate d'éthyle est un petit peu plus grand que l'extrait de chloroforme en phénols totaux .

La Figure (IV-02) présente la teneur en phénols totaux de l'espèce dans les différents extraits étudiés.

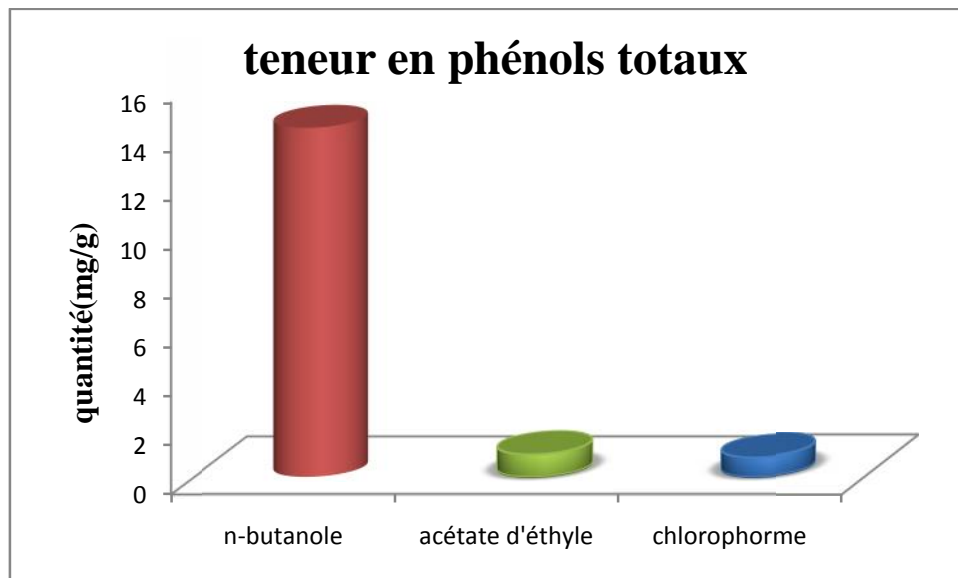


Figure. IV.02: comparaison de la teneur en phénols totaux des extraits.

IV-2.2. Dosage des flavonoïdes

En utilisant les valeurs des absorbances obtenues pour les différentes solutions de Quercetine ainsi préparées nous avons tracé la courbe d'étalonnage (Figure IV- 03).

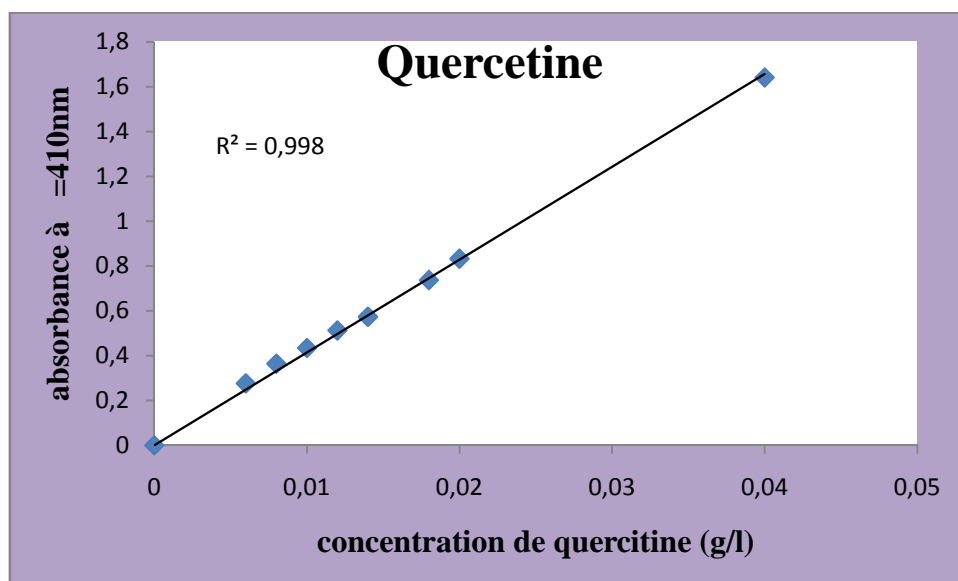


Figure. IV.03 : Courbes d'étalonnage du Quercetine.

La teneur en flavonoïdes totaux de chaque extrait a été calculée et exprimé en équivalent Quercétine en milligramme par 1g de la matière végétale (mg/g). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (IV-03).

Tableau. IV.03: Quantité des flavonoïdes totaux dans les extraits.

	<i>Urtica dioica</i> (mg/g)
n-butanolique	4.31
Acétate d'éthyle	0.278
Chloroforme	0.24

Selon les résultats de tableau (IV-03), la teneur en flavonoïdes totaux dans la phase butanolique de notre plante est la plus riches que l'extrait d'acétate d'éthyle et de chloroforme.

Notons que pour la phase acétate d'éthyle, la teneur en flavonoïdes totaux est plus grande que dans la phase de chloroforme.

La figure (IV-04) présente la teneur en flavonoïdes totaux d'espèces dans les différents extraits étudiés.

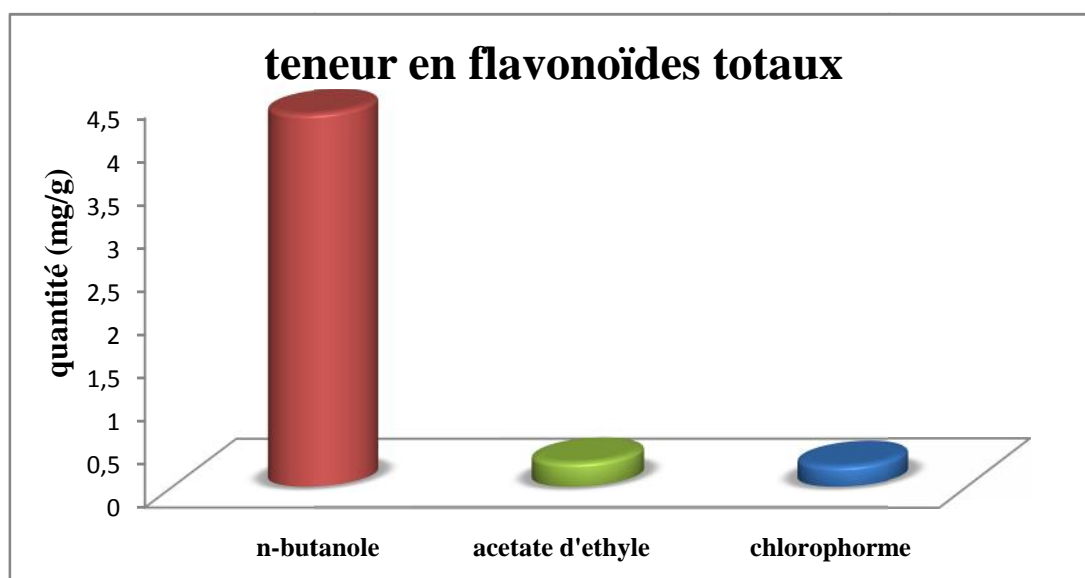


Figure. IV.04 : la teneur en flavonoïdes totaux d'espèces.

IV-2.3. Comparaison des teneurs des phénols totaux et des flavonoïdes

Les résultats obtenus ont montré que la teneur des flavonoïdes et les phénols totaux des extraits butanoliques est plus grande par rapport à la teneur des extraits d'acétate d'éthyle et chloroforme équivalent de la quercétine et d'acide gallique successivement.

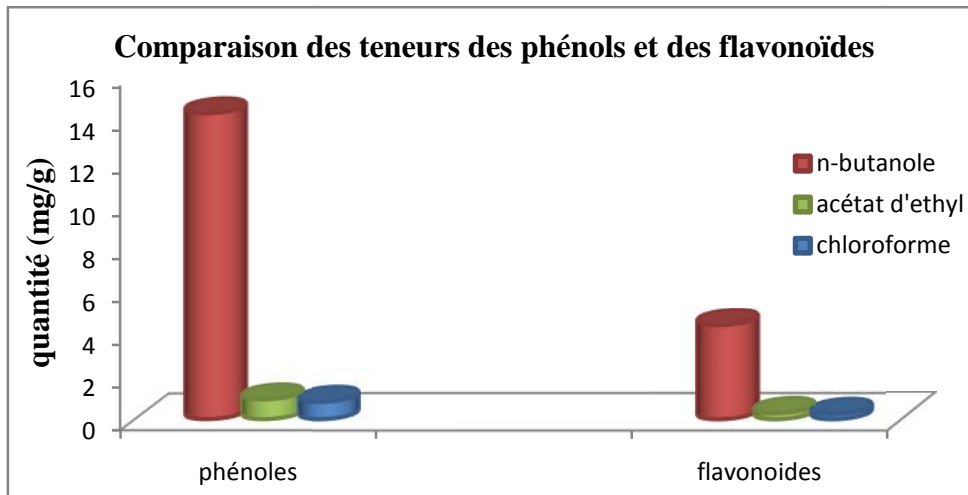


Figure .IV.05: les teneurs des phénols et des flavonoïdes.

D'après les résultats précédents, on constate que dans les extraits n- butanol, acétate d'éthyle et chloroforme, la teneur en phénols totaux est supérieure que celle des flavonoïdes.

IV-3. Evaluation du pouvoir antioxydant

IV-3.1. Test de réduction de fer (FRAP)

L'absorbance de chaque solution a été déterminée à 700nm contre un blanc. Les solutions ainsi préparées ont permis de tracer la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (Vitamine C) représenté dans la figure (IV-06).

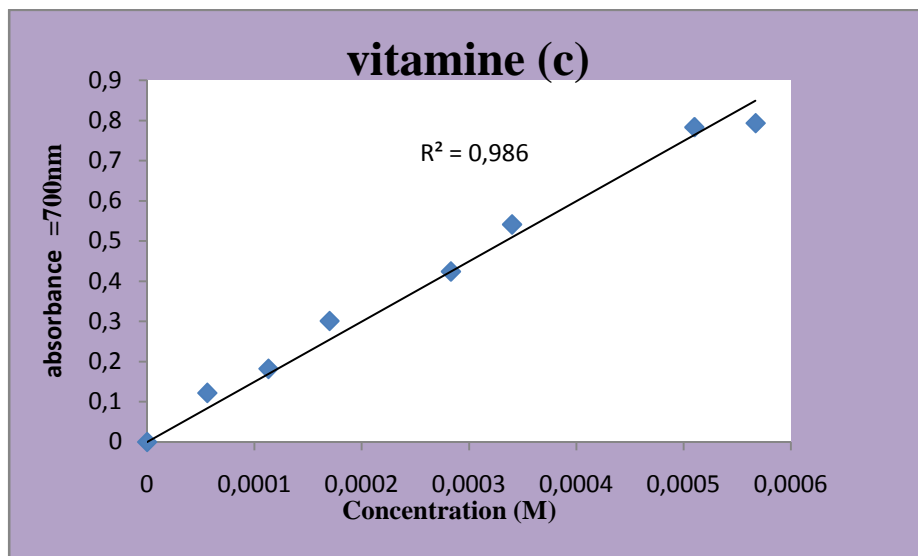
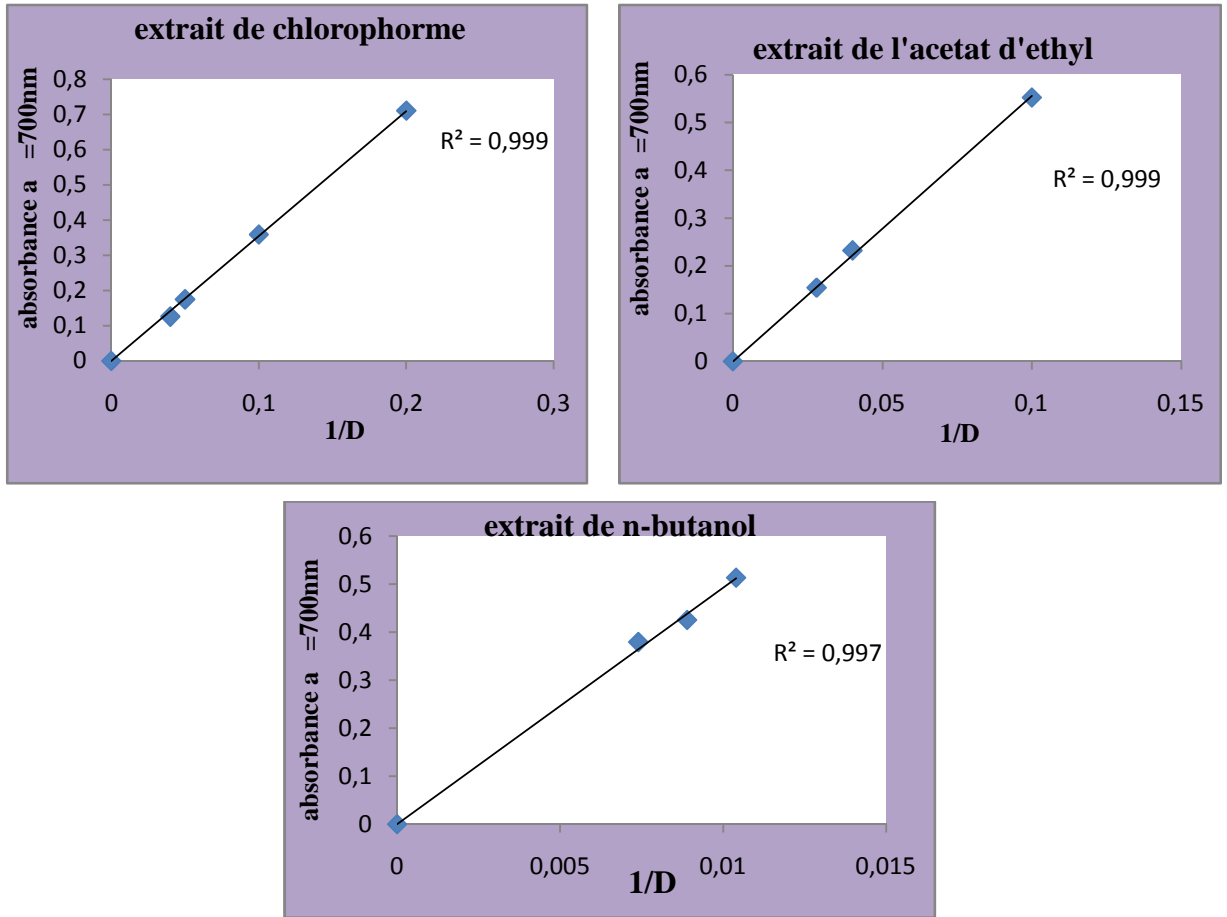


Figure. IV.06 : courbe d'étalonnage d'acide ascorbique.

Les différents extraits sont traités de la même façon que ceux des solutions standards de l'acide ascorbique (V.C). Nous avons tracé les courbes représentant la variation du pouvoir réducteur exprimée en absorbance en fonction de l'inverse du nombre de dilution (Figure IV-07)



D: nombre de délutions.

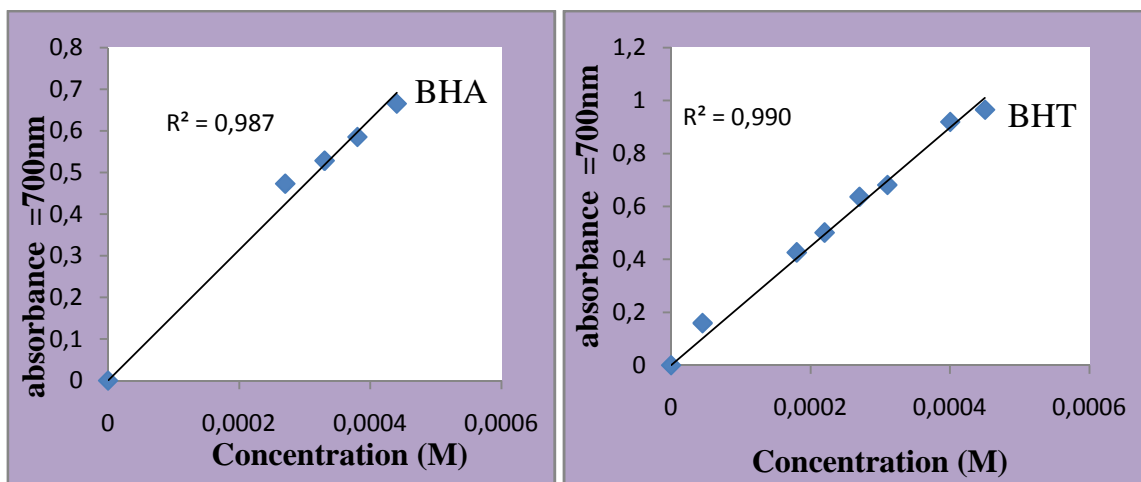


Figure. II.07 : Courbes représentant le pouvoir réductrice des différents extraits, BHA et BHT.

On résume les résultats des tests du pouvoir réductrice dans le tableau (IV- 04)

Tableau. IV.04: Les valeurs d'AEAC des différents extraits étudiés.

Echantillon	AEAC (mM/mMVC)
φ n-butanolique	32.92
φ acétate d'éthyle	3.59
φ chloroforme	2.33
B H A	1.03
B H T	1.49

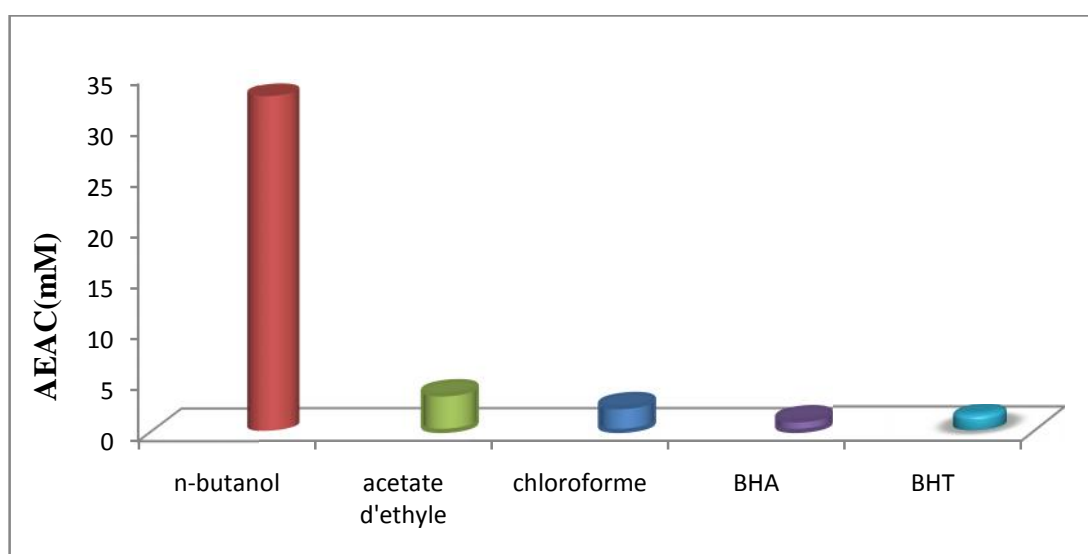


Figure. IV.08: évaluation de l'activité antioxydant par la méthode FRAP.

Les résultats d'activité antioxydant exprime en AEAC montre clairement que l'extrait de n-butanol présente le pouvoir de réduire l'ion Fe^{3+} le plus intéressant (le potentiel anti oxydant le plus fort), par contre les extraits d'acétate d'éthyle, chloroforme, BHA et de BHT montrent un pouvoir réducteur moins fort.

Ces résultats pourront expliquer que l'extrait de n-butanol présentant un pouvoir réducteur important renferme de ses molécules ayant un potentiel réducteur donneur d'électron plus fort, tandis que les autres extraits qui ont montré un pouvoir réducteur moins fort prouvent renferme des substances à potentiel réducteur donneur d'électron aussi moins fort.

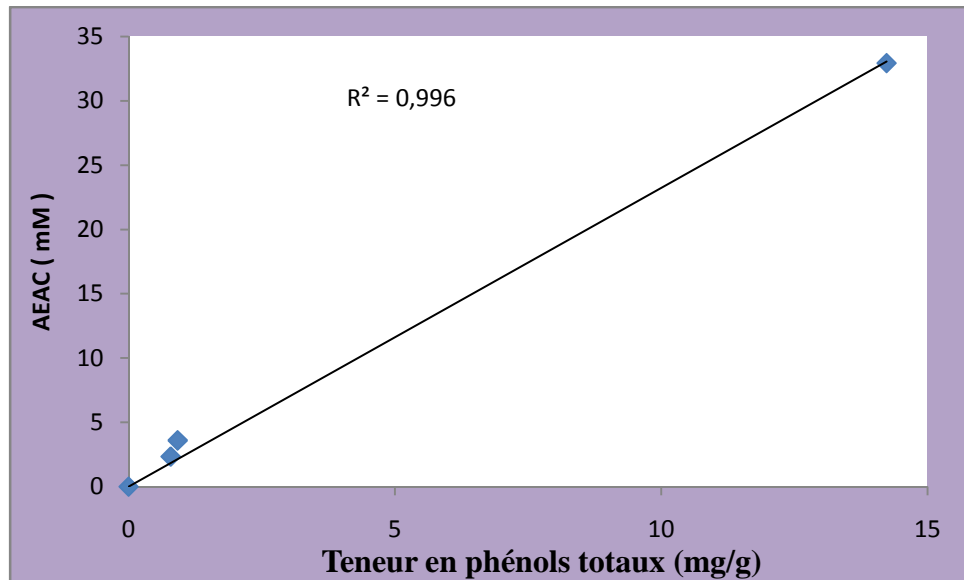


Figure. IV.09: Variation des valeurs d'AEAC en fonction du contenu en phénols totaux.

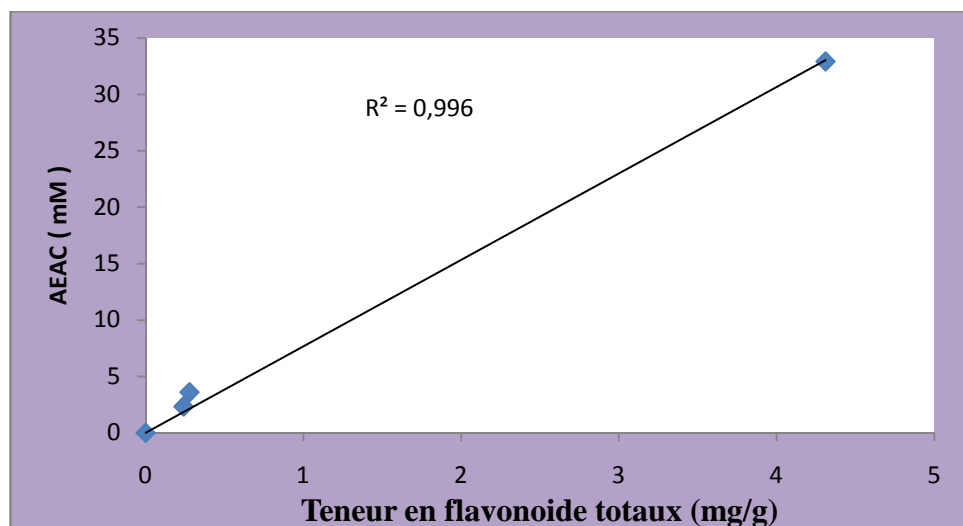


Figure. IV. 10: Variation des valeurs d'AEAC en fonction du contenu en flavonoïdes.

Suivant ces tracés, il est clair que le niveau d'activité antioxydant se corrèle positivement avec à peu près tout le contenu en phénols totaux et flavonoïdes avec un coefficient de corrélation de l'ordre $R^2 = 0.996$.

II.3.2. Teste de Réduction du radical stable le DPPH

Les graphes ci-dessus représentent la variation du pouvoir antioxydant (I) en fonction de la concentration de chaque extrait phénolique (figure IV-11).révèlent que les extraits de *urtica dioïça* possèdent une activité antiradicalaire dose dépendante, les IC_{50} de chacun des différents extraits ont été déterminées (Tableau IV-05).

Les valeurs d'absorbance des différentes solutions de l'acide Ascorbique sont représentent dans les courbes suivante :

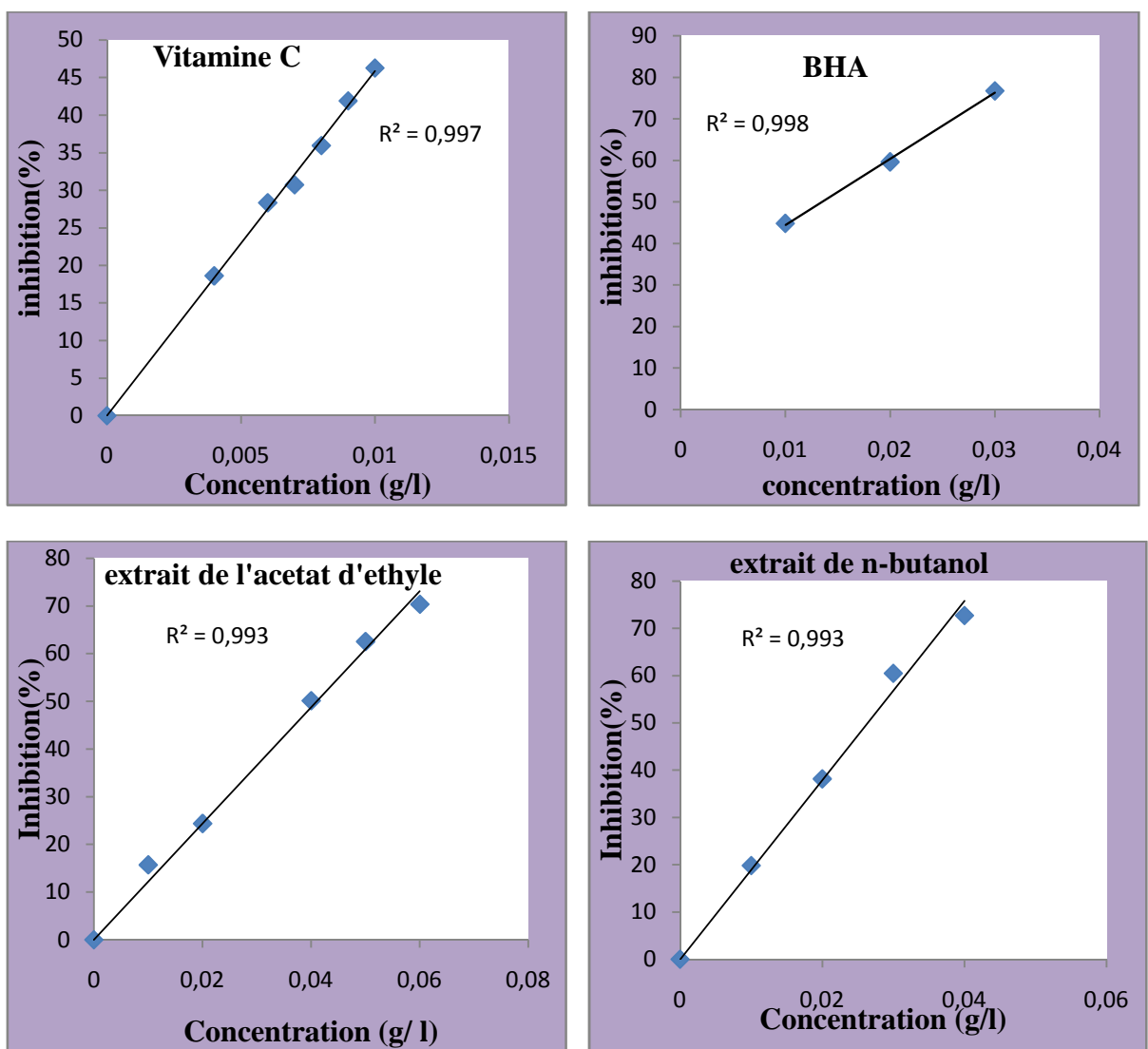


Figure. IV. 11: Pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes Concentrations utilisées pour des extraits et VC, BHA

L'IC₅₀ est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé, car il exprime la quantité d'antioxydant requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%.

Le tableau mentionne les résultats obtenus de l'activité antioxydante des différents extraits de l'*urtica dioica*.

Tableau. IV.05 : IC₅₀ de DPPH des extraits d'*urtica dioica*.

	IC ₅₀ (g/l)
n-butanolique	0.026
Acétate d'éthyle	0.041
Vitamine C	0.01
BHA	0.013

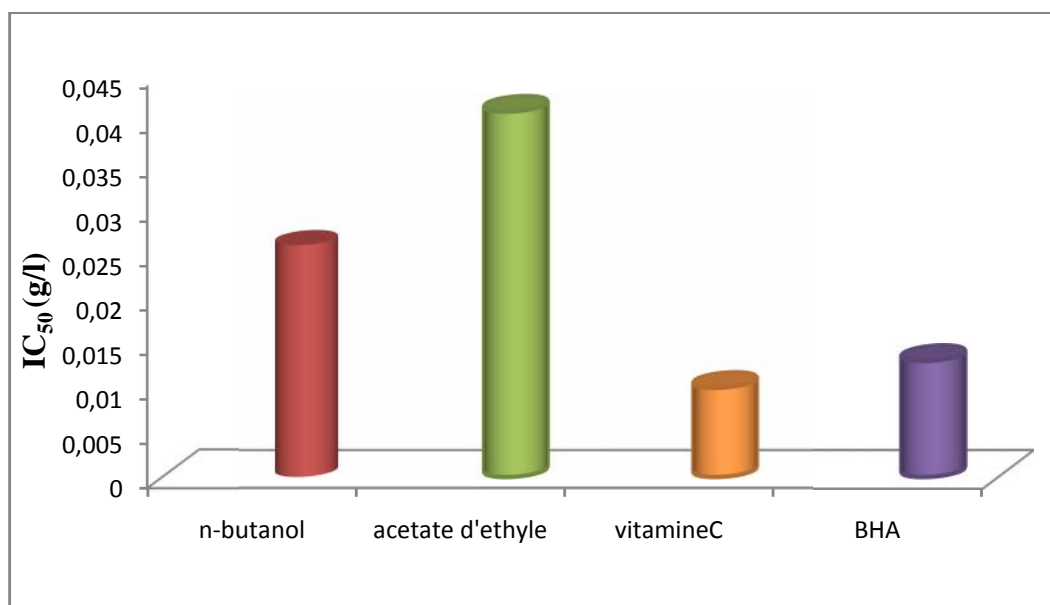


Figure. IV. 12 : Histogramme des valeurs des concentrations inhibitrices 50 des différents Extraits, VitamineC et BHA en (mg/ml)

Les résultats exprimés en tant que pourcentage de l'activité anti-radicalaire révèlent que tous les extraits testés ainsi que l'Acide Ascorbique et BHA pris comme des standards pour comparer leurs IC₅₀ et IC₅₀ des extraits phénoliques

La capacité à piéger le radical libre, DPPH a été mesurée pour chaque extrait. vitamineC une valeur de IC_{50} (0.01g/l), qui révèle la plus grande et l'efficacité de piéger le radical libre, en suit l'extrait de BHA, n-butanol et l'acétate d'éthyle, avec des valeurs de IC_{50} , ont pris comme des références, qui ont montré des valeurs de IC_{50} (0.013, 0.026, 0.041g/l).

Conclusión

Conclusion

Les plantes aromatiques et médicinales sont la source de la majorité des antioxydants naturels et elles restent encore sous exploitées dans le domaine médicale.

Dans l'industrie pharmaceutique, sachant que les antioxydants sembleraient de manière significative à la prévention des maladies, le développement de nouveaux médicaments à base d'antioxydants d'origine naturelle doit être à l'ordre de jour.

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et du pouvoir antioxydant de différents extraits de *Urtica Diocia* de la région de Jijel.

La première étape qui consiste à l'extraction des composés phénoliques (fraction chloroforme, fraction d'acétate d'éthyle et n butanol) nous a permis de calculer le rendement de chaque extrait.

La teneur des phénols totaux, adaptant par la méthode de Singleton et Ross. La teneur la plus élevée des polyphénols est constatée dans l'extrait butanolique 14.23mg GAE/ g. suivi par fraction d'acétate d'éthyle 0.92 mg GAE/ g , puis la fraction de chloroforme 0.79 mg GAE/g.

En parallèle, La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode du trichlorure d'aluminium nous avons observé le même résultat qui nous remarquons par les polyphénols la teneur la plus élevée 4.31mg QE/g Concernant l'activité antioxydante, nous avons étudié le pouvoir antioxydant par la capacité de piégeage de radical DPPH et de réduction de fer, afin de localiser la fraction qui représente l'activité la plus élevé. Nous avons constaté pour l'activité antioxydante par la méthode FRAP, que tous les extraits de la plante étudiée ont la capacité de réduire le fer qui augmente en fonction de la concentration. Comme nous avons remarqué que les extraits présentent une capacité intéressante pour réduire le fer par rapport aux BHA et BHT.

Cependant, pour le piégeage du radical libre DPPH et en comparant les IC₅₀ des différents extraits testés par rapport l'acide ascorbique et BHA, nous avons remarqué une activité antioxydante très importante et IC₅₀ des extraits presque comme des standards Le Vitamine C une valeur de IC₅₀ (0.01), qui révèle la plus grande et l'efficacité de péager le

radical libre, en suit l'extrait de BHA, n-butanol et l'acétate d'éthyle, avec des valeurs de IC₅₀, ont pris comme des références, qui ont montré des valeur de IC₅₀ (0.013 , 0.026,0.041).

En général, on peut conclure que l'*Urtica dioica* est riches en Phénols Totaux et en Flavonoïdes et aussi ont le pouvoir réductrice pour neutraliser les dommages cellulaires causés par les radicaux libres donc ces molécules sont considérées comme des agents antioxydants de première classe et peuvent être employées pour des applications thérapeutiques, sachant que les antioxydants contribuent de manière très efficace à la prévention des maladies telles que le cancer, et les maladies cardiovasculaire.

Référence

Référence bibliographie

- [01]: M. Belguidoum. Une approche phytochimique pour différencier deux espèces de genre *Zygophyllum*. mémoire master académique Université kasdi merbah ouargla, (2011-2012).
- [02]: M. Ben Slimane. et M.T Bourasse. contribution a l'étude de l'activité antioxydant de la plante acaia arabica. (Ingénieur d'état). université kasdi-merbah Ouargla, (2010).
- [03]: W. Vermerris, R. Nicholson. Phenolic compound biochemistry Springer. The Netherlands, (2006).
- [04]: D. Kone. enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes, extraction, identification d'alcaloïdes, caractérisation, quantification de polyphénols : étude de leur activité antioxydante. thèse doctorat chimie organique. université de Bamako, (2008-2009).
- [05]: O. Touafe. étude phytochimique des plantes médicinales du nord et du sud Algériens .Thèse Doctorat. Université Mentouri. Constantine, 2010.
- [06]: T. Midoun. extraction des composés phénoliques et étude leur activité antioxydant par le comportement électrochimique. mémoire fin d'étude université kasdi merbah ouargla, (2010/2011).
- [07]: M. Michelline Regina KANSOLE. étude ethnobotanique. phytochimique et activités biologiques de quelques lamiaceae du burkina faso : cas de leucas martinicensis (jacquin) r. brown, hoslundia opposita vahl et orthosiphon pallidus royle ex benth. Diplôme d'études approfondies (d.e.a). université ouagadougou, (2009).
- [08]: J. Bruneton, Pharmacognosie. Deuxième édition. Tec-Doc. Paris.
- [09]: A .Scalbert. Les polyphénols : intérêt nutritionnel Laboratoire des Maladies

Métaboliques et Micronutriments Centre de Recherche de Clermont-Ferrand/Theix
INRA Saint-Genes-Champanelle France.

- [10]: E. NKHILL. Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. Thèse Doctorat. Université Cadi Ayyad. Faculté Des Sciences Semlalia Marrakech, 2009.
- [11] : B. Halliwell. Gutteridge. J.M.C. Free radicals in biology and medicine. Oxford UK. (1999).
- [12]: S. Mohammedi. étude de pouvoir antimicrobienne et antioxydant des huiles essentielle de quelque et flavonoïdes plants de la région de Tlemcen. mémoire magister, Université Abou Bakr Belkaïd Tlemcen, (2005/2006).
- [13]: S. Maamri. étude de pastacia atlantica de deux régions de sud algérienne dosages des lipides. dosages des polyphénols, essais antileishmaniens .université de m'hamed bougera boumerdes, (2008).
- [14]: R. Amrani. etude comparative des composes phénoliques et du pouvoir: antioxydant de quelque variétés de dattes d'algerie, master académique, université de Ouargla, (2011/2012).
- [15]: L. HIMED. Evaluation de l'activité antioxydant des huiles essentielles de Citruslimon : application à la margarine, mémoire magister, université mentouri Constantine, (2010/2011).
- [16] B. H. Havsteen. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. Pharmacol. Therapeutics, 2002. 96- 67-202.
- [17] A. Wen-Rehaba. étude des activités biologiques et la toxicité aigue de l'extrait aqueux des feuilles de Mangifera Indica L. (Anacardiaceae). Thèse de doctorat. Université de Bamako, (2002).128p.
- [18]: H. Coupin .les plantes médicinale Ed. costas .paris, (1920).
- [19]: Livré n°02. les plantes médicinales. les richesses naturelles du parc national de Taza jijel, 2011 .page 05.

Annexe

1.Extraction des Polyphénols :



2. L'évaporation des solvants par Rota-Vapeur :



3. L'appareille UV-Visible utilisées



4. spectrophotomètre



Résumé

L'*Urtica dioïca*, de la famille des Urticacée, est Largement répandue dans le monde. Elle est reconnue comme l'une des plantes médicinales spontanées les plus utiles et les plus efficaces.

L'objectif de cette étude était de quantifier les phénols totaux et les flavonoïdes des extraits d'une plante de la région de Jijel (*Utica dioïca*), et d'évaluer l'activité antioxydant par deux méthode ,méthode au DPPH et la méthode de réduction de fer, les phénols totaux ont été déterminés par la méthode de réactif de folin-ciocalteu ,et les flavonoïdes par la méthode au trichlorure d'aluminium.

Les résultats obtenus ont montré que la teneur des flavonoïdes et les phénols totaux des extraits butanoliques est plus grande par rapport à la teneur des extraits d'acétate d'éthyle et chloroforme équivalent de la quercetine et d'acide gallique successivement.

les trois extraits aussi donnent une grande activité antioxydant selon la méthode de réduction de fer par rapport au BHA, BHT et une activité approche de la vitamine C et BHA suivant la méthode des radicaux libre DPPH.

L'inhibition de l'oxydation de nos extraits a été évaluée par le test DPPH qui à montré une activité antioxydante comparativement a l'acide ascorbique et BHA par contre le test de réduction de fer montre une grande activité antioxydante comparative a BHA, BHT et l'acide ascorbique.

Mots clés: les flavonoïdes, composés phénoliques, l'activité antioxydant, inhibition IC₅₀.

Abstract

The *Urtica dioïca*, the family Urticacée is Widespread in the world. It is recognized as one of the most spontaneous herbs useful and effective.

The objective of this study was to quantify total phenols and flavonoids extracted from a plant of the Jijel (*Utica dioïca*), and to evaluate the antioxidant activity by two method, the DPPH method and the method of reduced iron, total phenols were determined by the method of Folin-Ciocalteu reagent and flavonoids using the method with aluminum trichlorid.

The results showed that the content of flavonoids and total phenols of butanol extracts is greater compared to the content of ethyl acetate and chloroform equivalent of quercetin and gallic acid sequence acetate extracts.

The three extracts also give a great antioxidant activity according to the method of reduction of iron compared to BHA, BHT and approach of vitamin C and BHA following the method of DPPH free radical activity

The inhibition of the oxidation of our extracts was evaluated by the DPPH test has shown antioxidant activity compared to ascorbic acid and BHA against the iron reduction test shows a great antioxidant activity has comparative BHA, BHT and ascorbic acid.

Keywords: Total phenols, flavonoids, antioxidant activit, IC₅₀

المخلص

نبته الحريق من عائلة les urticacée, هي نبته منتشرة بكثرة في العالم, معروفة بكونها النبته الطبيه الأكثر استعمالا والأكثر فعالية.

الهدف من هذه الدراسة هو تقدير كمية الفينول الكلية و محتوى الفلافونيدات لمستخلصات النبته الطبيه لمنطقة جيجل (نبته الحريق أو الزقطوف) , و تقييم الفاعلية المضادة للأكسدة بطريقتين : طريقة (DPPH وطريقة إرجاع شوارد الحديد Fe^{3+}), تم تحديد كمية الفينول الكلية بطريقة الكاشف Folin-ciocalteu , و الفلافونيدات بواسطة ثلاثي كلوريدالألومنيوم وهذا بإستعمال جهاز spectromètre UV.

أظهرت النتائج المتحصل عليها أن الكمية الكلية للفلافونيدات و الفينولات لمستخلص البيوتانول أكبر بكثير مقارنة مع مستخلصات أسيتات الاثيل و الكلوروفورم المكافئة للكرستين و حمض الغاليك على التوالي, كما أعطت المستخلصات الثلاث فعالية كبيرة حسب طريقة إرجاع الحديد مقارنة ب: BHA و BHT, أما بطريقة الجدر الحر DPPH فكانت فعالية المستخلصات مضادة للأكسدة مقارنة للفيتامين C و BHA.

الكلمات المفتاحية : المركبات الفينولية, الفلافونيدات, النشاط المضادة للأكسدة,,مقدار IC₅₀